

Etude des variations de la phosphatasémie, de la calcémie et de la phosphorémie chez les volailles

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 15 Mars 1955.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Jean ETIENNEY

Né le 21 Décembre 1930, à CHALON-SUR-SAONE (Saône-et-Loire)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42.

1955

ETUDE DES VARIATIONS DE LA PHOSPHATASEMIE,
DE LA CALCEMIE ET DE LA PHOSPHOREMIE
CHEZ LES VOLAILLES

Etude des variations
de la phosphatasémie,
de la calcémie
et de la phosphorémie
chez les volailles

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 15 Mars 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Jean ETIENNEY

Né le 21 Décembre 1930, à CHALON-SUR-SAONE (Saône-et-Loire)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Editeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur. M. JUNG.

Professeurs honoraires } BASSET.
DOUVILLE.
CUNY.

PROFESSEURS

Physique, Chimie et Toxicologie, Pharmacie, Hygiène du lait	MM. TAPERNOUX
Anatomie descriptive des animaux domestiques. Tératologie.	TAGAND.
Physiologie, Thérapeutique générale, Matière médicale.	JUNG.
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des viandes	LUCAM.
Parasitologie et Maladies parasitaires, Zoologie appliquée, Botanique, Clinique des maladies parasitaires.	EUZEBY.
Pathologie chirurgicale, Médecine opératoire et Ferrure, Sémiologie, Clinique chirurgicale..	COLLET.
Pathologie médicale des Equidés et des Carnassiers, Sémiologie et Propédeutique, Jurisprudence vétérinaire, Médecine légale, Clinique médicale.	BRION.
Pathologie de la Reproduction, Sémiologie et Pathologie de la reproduction chez les animaux domestiques, Obstétrique, Clinique	BERTRAND.
Maladies microbiennes, Police sanitaire, Microbiologie et pathologie générale, Clinique spéciale.	GORET.
Zootecnie et appréciation des animaux domestiques, aliments du bétail, agronomie et hygiène des animaux, économie rurale	JEAN-BLAIN.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. BARONE, FERRANDO, JOUBERT, BOST, MAGAT, Agrégés
MM. COULON, FERNEY, FLACHAT, COTTEREAU

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : M. le Professeur MOURIQUAND.
Premier Assesseur : M. le Professeur BRION.
Deuxième Assesseur : M. le Professeur EUZEBY.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOURIQUAND

Qui nous fait le grand honneur
de présider le jury de notre thèse,
nous adressons nos remerciements
très respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BRION

Dont l'enseignement nous est si
précieux et grâce auquel nous avons
pu mener à bien ce travail, nous ex-
primons notre profonde et respec-
tueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. EUZEBY

Nous exprimons notre gratitude
pour son aimable participation à
notre thèse.

A MON PERE ET A MA MERE

Je dédie ce modeste ouvrage en témoignage de mon affection et de ma profonde reconnaissance pour tous les sacrifices qu'ils firent pour moi.

A MA FEMME

En gage d'un grand amour.

A MON BEAU-FRERE ET ANCIEN
LE DOCTEUR-VÉTÉRINAIRE BUSSERON

Qui m'inspira ma vocation et restera pour moi un exemple d'honnêteté et d'habileté professionnelle.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

INTRODUCTION

La production du poulet de table a une très grande importance actuellement. L'élevage industriel se substitue de plus en plus à l'élevage fermier, en particulier en hiver et au printemps. L'ensemble atteint le chiffre impressionnant de 95 milliards de francs par an pour 1954.

Parallèlement la production de l'œuf, destinée à la consommation, à l'incubation prend un caractère de plus en plus scientifique. Les deux productions visant actuellement à un rendement maximum pour être plus rentables doivent par contre obéir aux exigences de la diététique.

La vitamine D est indispensable aux volailles pour leur métabolisme, l'équilibre phospho-calcique, la ponte, l'incubation. Elles la reçoivent directement par l'alimentation ou en font la synthèse sous l'action des radiations solaires.

Un poussin qui peut naître en état de précaréance, étant le produit de reproducteurs carencés, sera atteint rapidement de troubles graves s'il est soumis à une alimentation déséquilibrée. En effet, la croissance du poulet est très rapide, à 1 mois le poussin a augmenté son poids de 6 fois environ, à 2 mois de 21 fois. A la fin du 3^e mois, il pèsera 42 fois son poids à la naissance, il devra atteindre 1.500 grammes et sera vendu.

La poule pondeuse doit recevoir une ration qui couvre à la fois ses besoins d'entretien, c'est-à-dire de maintien de poids et ses besoins de production. Pour pondre, une poule doit trouver dans sa ration quotidienne 2 % de Calcium et 0,95 % de Phosphore ainsi que 1.000 Unités A. O. A. C. de Vitamine D₃ par kilog de nourriture.

Avant que n'apparaissent chez le jeune poulet les troubles de déminéralisation, l'arrêt de croissance, il serait utile de

déceler l'état d'avitaminose D, le déséquilibre phosphocalcique. De même un éleveur serait heureux de posséder un test précoce lui permettant de remédier à ces désordres avant qu'il ne soit trop tard. Et si l'on sait qu'une pondeuse carencée en vitamine D voit sa ponte ralentie, ses œufs devenir impropres à l'incubation, on se rend compte que le producteur d'œufs y est également intéressé.

Sous les conseils de notre maître, M. le Professeur BRION, nous entreprenons une étude de l'examen chimique du sang des volailles. En dosant la calcémie, la phosphorémie et le taux d'activité phosphatasique nous comparerons les résultats chez des sujets carencés à ceux obtenus chez des volailles de même âge et de même origine alimentées convenablement.

Nous soulignerons tout d'abord dans un premier chapitre le rôle de la vitamine D et de l'équilibre phospho-calcique ; puis dans un second, nous rappellerons les différents tests d'avitaminose D connus. Nous exposerons dans le troisième nos méthodes de dosage, et dans le dernier nous relaterons nos expériences.

Nous joindrons aux différents résultats obtenus un certain nombre de résultats concernant les poules pondeuses à leur première année et à leur seconde année de ponte.

CHAPITRE I

LA VITAMINE D ROLE DANS L'OSTEOGENESE LA PONTE ET L'INCUBATION PATHOLOGIE DU PHOSPHORE ET DU CALCIUM

La Vitamine D

SA DÉCOUVERTE

C'est une vitamine liposoluble, antirachitique connue depuis 1919 grâce à HULCHINSKY, Mac COLLUM la sépara de la vitamine A que l'on trouve également dans l'huile de foie de morue.

HESS et STEENBOCK montrèrent que les grains, les graisses végétales acquièrent après irradiation une propriété antirachitique. Les rayons solaires, en particulier les ultra-violets, préviennent les accidents ostéo-dystrophiques.

On rechercha dans les lipides la substance qui, après irradiation ultra-violette, devenait la vitamine antirachitique. Les lipides formées de glycérides et de lipoides, traitées par une base se transforment en sels d'acides gras et en une partie « insaponifiable » où se trouve la substance cherchée.

C'est dans l'insaponifiable que se trouve le cholestérol, source de vitamine antirachitique.

Le cholestérol très pur donnant très peu de vitamine D, on eut idée d'une impureté très voisine chimiquement et qui le suivrait dans les opérations d'extraction de ce corps.

SA SYNTHÈSE

TANRET découvrit l'ergostérol dans l'ergot de seigle. Par irradiation ce stérol subit des modifications moléculaires et acquiert la propriété antirachitique.

En purifiant le produit obtenu, REERINK et Van VIJK (1929) obtinrent les premiers un produit cristallisé.

BOURDILLON, ASKEW, WEBSTER en Angleterre, WINDOUS, DEPPE, LUTTRINGHOUS en Allemagne par purification en extrairent le Calciférol ou vitamine D_1 .

Cette vitamine D_1 n'était en réalité qu'un mélange d'isomères, composée de néocalciférol à propriétés antirachitiques et de pyrocalciférol inactif.

BOURDILLON et WINDOUS presque simultanément les séparent. On obtint la vitamine D_2 ou Calciférol.

Cette vitamine D_2 était-elle celle contenue par l'huile de foie de morue, celle fabriquée par les animaux soumis à l'Insolation ? Ceci fut mis en doute. En effet sur le poussin carencable en vitamine D il faut trente à quarante fois moins d'Unités Internationales quand on se sert d'huile de foie de morue que si l'on se sert de calciférol pour obtenir les mêmes résultats.

Dès 1934, WADDEL affirmait que la vitamine D_2 n'était pas celle que renferme l'huile de foie de morue. En effet, l'ergostérol est un stérol végétal qui n'existe pas dans un organisme animal.

Le cholestérol non purifié, irradié ayant une valeur antirachitique pour le poulet et le rat, on rechercha la synthèse de la vitamine D par le cholestérol.

L'ergostérol diffère du cholestérol par deux points. Une double liaison entre C_{22} et C_{23} qui saturée n'empêche pas la propriété antirachitique d'apparaître par irradiation. Par la présence de doubles liaisons conjuguées telles qu'elles existent dans le deuxième noyau (noyau B) de l'ergostérol.

On essaya donc de créer une seconde double liaison dans le deuxième noyau du cholestérol. WINDAUS prépara un dérivé déshydrogéné du cholestérol, celui-ci ayant perdu un atome

d'hydrogène sur les carbones 7 et 8, possède ainsi deux doubles liaisons dans la même position que dans l'égostérol, c'est le 7 — déhydrocholestérol.

Ce dérivé irradié donne des stérols inactifs et la vitamine D₃, cette dernière aussi active que l'huile de foie de morue sur le rachitisme du poulet.

SCHENK isole par chromophotographie la vitamine antirachitique de l'huile de foie de thon et de fléton. Elle est biologiquement et chimiquement identique à la vitamine D₃ de WINDAUS qui est donc bien la vitamine antirachitique naturelle.

POSOLOGIE

Les détails de la synthèse montrent qu'il est nécessaire de vérifier la teneur en vitamine D des différents aliments destinés aux volailles. En plus d'une surveillance quantitative, il importe de vérifier si cette vitamine est bien la vitamine D₃, véritable vitamine antirachitique.

Pour l'alimentation de croissance, il faut environ 400 à 900 unités A. O. A. C. de vitamine D 3 par kilog d'aliment.

Pour la poule pondeuse, 1.000 unités A. O. A. C. de vitamine D 3 par kilog d'aliment seront nécessaires.

L'unité A. O. A. C. de vitamine D₃ équivaut à la quantité d'enzyme qui est nécessaire à un poussin Leghorn blanc de 1 à 3 jours pour éviter l'apparition du rachitisme.

Soulignons que si l'aliment considéré ne contient que de la vitamine D₂, la quantité que l'on devra exiger sera au moins trente fois supérieure.

PROPRIÉTÉS DE LA VITAMINE D₃

La vitamine D₃ se présente sous forme de cristaux et d'aiguilles blanches à l'état pur. Elle est soluble dans les graisses, on la trouvera sous forme de solutions huileuses, elle est très rarement employée en solution alcoolique.

Sa résistance à la chaleur jusqu'à 200 degrés permet de l'incorporer dans les aliments cuits.

Elle est peu oxydable et pourra être conservée intacte dans une solution huileuse à l'obscurité et sans air pendant deux ans. Remarquons que ces propriétés rendent facile son emploi normal ou thérapeutique.

La substance pure connue sous le nom de vitamine D₃ doit être dénommée cholecalciférol, ainsi en a-t-on décidé à la xvi^e conférence de l'Union Internationale de Chimie pure et appliquée (New-York, 3-7 septembre 1951).

TITRAGE ET EMPLOI

La vitamine D₃ (cholecalciférol) se dose obligatoirement sur le poulet. La méthode préconisée par l'Association of Official Agricultural Chemists prescrit l'emploi de poussins Leghorn blancs âgés de un à trois jours. La technique employée est celle du « line test » on a l'unité A. O. A. C.

Les Américains estiment qu'en moyenne 100 Unités Internationales de vitamine D₂ (ergocalciférol) correspondent pour le poussin à une unité A. O. A. C.

La vitamine D₃ sera donc employée avec profit en complément dans certains aliments carencés. On l'emploiera alors sous forme d'huile de foie de morue, de flétan souvent enrichie par l'addition de cholécalciférol.

En thérapeutique aviaire, la vitamine D₃ présente toutes les possibilités thérapeutiques. Elle peut être employée *per os* ou en injections dans les cas graves. Elle est parfaitement adaptée aux besoins des volailles.

L'ostéogénèse

SON ASPECT BIOCHIMIQUE

Dans un premier stade il y a formation de la matrice osseuse, elle est d'origine mésenchymateuse ; on connaît fort peu la transformation des protéines en substance préosseuse. On pense qu'une substance inductrice l'« ostéogénine » agirait alors (LEVANDEUR et LACROIX).

Préparation à la calcification, dans cette deuxième phase, trois phénomènes interviennent : une apparition massive de phosphatases alcalines au niveau des ostéoblastes et des cellules hypertrophiées des cartilages d'ossification. De plus, enrichissement de la matrice protéique en phosphore et en calcium sans doute sous forme d'ions PO_4^{--} et Ca^{++} combinés aux protéines. Puis il y a enrichissement local en ions PO_4^{--} et secondairement en Ca^{++} qui se traduisent par une précipitation de phosphate tricalcique. Les ions PO_4^{--} proviennent de l'action de la phosphatase sur les substrats phosphoriques fournis par la phosphorylase.

Dans une dernière phase se produit la fixation du phosphate tricalcique aux protéines par un mécanisme inconnu.

LES FACTEURS DE LA CHIMIOGÉNÈSE OSSEUSE

Ils sont multiples. Nous étudierons les principaux facteurs externes et internes.

Au premier plan des facteurs externes se situe *le régime*. Il nous faut souligner l'importance extrême du Calcium et du Phosphore à ce sujet.

Chez le poulet d'élevage, la croissance rapide entraîne, si le régime est carencé, une prolifération du tissu ostéoïde qui se traduit par un état de déminéralisation : le rachitisme. Le sacrifice précoce au bout de 100 jours permet de tolérer un certain état de déminéralisation. Mais un état rachitique avancé entraîne un mauvais état général, des déformations osseuses : bec mou, bréchet en S qui se traduit par une mévente de ces sujets ou à une vente à un prix plus bas, en raison de leur qualité inférieure.

De plus, il doit exister un rapport convenable entre les quantités de phosphore et de calcium contenues dans les aliments. L'hypophosphorose se traduit par un état d'hyperphosphatasémie qui engendre le rachitisme. L'hyperphosphorose due à un excès d'acide phosphorique entraîne également des troubles organiques.

La forme chimique du phosphore alimentaire n'est pas

indifférente. L'avoine et le maïs par exemple ont une haute teneur en phosphore, mais ce phosphore se trouve en réserve sous forme d'acide phytique libérable par la phytase qui est en faible quantité dans ces céréales. Il sera donc imparfaitement employé par l'organisme.

En pratique on fournira au poulet les quantités de phosphore et de calcium suivantes :

Calcium (exprimé en Ca) : 1,1 à 1,15 % de la ration

Phosphore (exprimé en P) : 0,55 % de la ration

On réalisera un rapport alimentaire $\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$ compris entre 1,6

et 2,6. *La lumière solaire* joue également un grand rôle dans de bonnes conditions d'hygiène. Elle permet la synthèse de la vitamine D₃ dans la peau à partir des stérols cutanés. Elle stimule le métabolisme général. Il y a avantage à placer les volailles dans un endroit aéré et bien éclairé. Dans le cas d'élevage en batterie, on les placera sous l'action de lampes à radiations ultra-violettes.

Les vitamines. L'acide ascorbique est indispensable pour la formation de la substance préosseuse, l'alimentation destinée aux volailles en est bien pourvue.

La vitamine D favorise l'absorption et la fixation sur les os des matériaux phosphocalciques. Elle agit par toutes les voies. Nous avons vu précédemment qu'il est indispensable d'employer la vitamine D₃, la posologie et les précautions à prendre dans son emploi.

Les aliments destinés aux volailles sont pratiquement dépourvus de principes naturels antirachitiques, il faudra nécessairement ajouter une quantité suffisante de ce principe indispensable.

Les facteurs internes de la chimiogénèse osseuse visent à l'absorption et plus spécialement à la différenciation des matériaux nécessaires à la naissance et à la vie de l'os. Ce sont des enzymes appelés phosphatases.

Les phosphatases des os libèrent l'acide orthophosphori-

que à partir d'un substrat particulier à chaque phosphatase. Ce sont des agents de ravitaillement local en ions phosphoriques. Lors de la production de phosphatases dans un organe il y a passage de ces enzymes dans le sang. Nous étudierons en détail dans un chapitre suivant l'intérêt expérimental de ces enzymes.

La ponte - L'incubation

La poule pondeuse carencée en vitamine D ne présentera pas de rachitisme à déformation osseuse si elle a effectué sa croissance dans de bonnes conditions nutritives. Le producteur d'œufs aurait tort cependant de négliger ce problème, et devra veiller à un apport convenable de calcium, de phosphore et de vitamine D₃.

Voyons en effet le rôle de ces principes nutritifs. La poule pondeuse devra recevoir une quantité de calcium, phosphore et vitamine D₃ couvrant sa ration d'entretien. Puis elle devra élaborer la substance de l'œuf.

L'œuf est composé de trois parties : la coquille 11 à 13 % du poids de l'œuf, le blanc 59 à 60 %, le jaune 27,5 à 29,5 %.

Le blanc et le jaune ne contiennent qu'un pour cent de matières minérales.

La coquille a la composition suivante :

CO ³ Ca	93,7	%
CO ³ Mg	1,3	%
Phosphates divers	0,75	%
Eau - Matières organiques	4,25	%

Nous voyons donc l'importance du calcium dans l'alimentation de la poule pondeuse. Il faut une grande quantité de calcium pour former le carbonate de calcium qui compose 93,7 % de la coquille.

Privée de calcium, la poule pondra des œufs à coquille mince, molle ou même sans coquille. Elle puisera dans ses os une partie du calcium qui y est combiné. Ses os deviendront

poreux, son état général s'en ressentira, sa production d'œufs sera très limitée.

L'importance du phosphore est moindre quantitativement, mais il est cependant indispensable aussi bien pour le métabolisme de la poule que pour la production des œufs (phosphates de la coquille, métabolisme des glucides du blanc et du jaune, composés organiques du fer dans le jaune).

L'incubation des œufs d'une poule carencée en ces éléments sera compromise, et même rendue impossible. Le carbonate de calcium de la coquille représente la réserve de calcium pour l'embryon. Il y a en effet migration du calcium de la coquille transformé en bicarbonate de calcium grâce au gaz carbonique provenant de la respiration de l'embryon. Ce bicarbonate de calcium soluble sera porté par la circulation de l'embryon au niveau des os, tout d'abord par les vaisseaux de la coquille puis par les vaisseaux du futur poussin. Sans calcium, la croissance osseuse de l'embryon est entravée. De même s'il y a insuffisamment de phosphore, la formation des os est compromise, ainsi que la plupart des processus biophysiques et biochimiques du métabolisme de l'embryon.

La vitamine D qui favorise l'absorption et la fixation sur les os des matériaux phosphocalciques doit également se trouver en quantité suffisante dans l'œuf.

On fournira donc à la poule pondeuse, en vue d'éviter ces accidents :

Calcium : 2 % de la ration ;

Phosphore : 0,90 % de la ration ;

Le rapport Ca/P sera compris entre 2 et 4 ;

Vitamine D₃ : 1.000 Unités A. O. A. C. par kg de ration.

CHAPITRE II

L'ANALYSE CHIMIQUE DU SANG

Ca, P, Phosphatases

test précoce de la carence en calcium et phosphore et de l'avitaminose D

TESTS D'AVITAMINOSE D

Signes directs

Le dosage direct de la vitamine D dans le sang n'est pas réalisable en pratique. Il consiste à évaluer le nombre d'unités de vitamine D contenues dans 100 cc. de sérum.

WARKNY, GUEST et GRABILL mirent au point une méthode de dosage. Le sérum sanguin desséché étant mis en ampoules, conservé au froid puis essayé sur le rat rachitique. Cette méthode est trop longue, trop onéreuse et exige une trop grande quantité de sang pour être employée chez les volailles.

Le dosage spectrophotométrique présente les mêmes inconvénients.

Signes indirects

Le dosage de la calcémie, de la phosphorémie reflète évidemment les quantités de calcium et de phosphore disponibles dans l'organisme. Si l'on y ajoute le dosage de la phosphatémie peut-on avoir un signe d'avitaminose D ? Si oui, par ce triple dosage nous serions renseigné et mis en garde contre un rachitisme près à apparaître chez un poussin, sur d'éventuels troubles de la ponte et de l'ossification chez la poule pondeuse.

PHOSPHATASE DES OS ET PHOSPHATASÉMIE

Les organes animaux renferment des diestérases, des pyrophosphatases et un mélange de phosphomonoestérases A 1, A 2, A 3 qui agissent simultanément dans les cellules.

Les os de tous les vertébrés contiennent la phosphomonoestérase A 1. Cet enzyme hydrolyse un grand nombre d'esters naturels ou synthétiques à un pH optimum de 8,5 à 9,5. Son action sur les esters naturels dérivés des glucides a un pH optimum de 9 à 9,2. Il existe divers inhibiteurs de l'enzyme des os : les oxalates alcalins et les fluorures. Au point de vue physiologique : les acides biliaires, la cystéine. La phosphatase est susceptible de présenter *in situ* des modifications d'intensité importantes d'origine incomplètement connue.

D'après ROBINSON et ROCHE, en période de calcification rapide la phosphatase est abondante, elle disparaît en période de calcification lente. La phosphatase ne joue donc un rôle certain que dans le premier cas.

ROBINSON en conclut que la phosphatase est un agent de ravitaillement local en ions phosphoriques. Elle permet l'accumulation de radicaux phosphoriques dans la substance préosseuse avant la formation du phosphate tricalcique.

Le sérum contient normalement deux phosphatases, l'une du type phosphomonoestérase II qui agit dans une solution à pH acide, l'autre du type phosphomonoestérase I qui agit dans une solution à pH alcalin ; cette dernière serait plus active (COURTOIS et PLUMEL).

C'est le plasma sanguin qui contient le « trop-plein » de la phosphatase des divers organes, entre autres des os, du rein, de l'intestin et du foie.

Une hyperproduction d'enzyme par l'un des organes qui en sont riches se traduit par une hyperphosphatasémie dont la connaissance peut être très utile aux cliniciens.

La phosphatasémie subit des variations physiologiques avec l'âge : elle est forte chez le jeune enfant et diminue de plus en plus vers l'âge adulte. Avec le régime alimentaire : elle baisse au cours du jeûne et des déficiences protéiques, elle augmente s'il y a un excès de glucides.

Elle subit également des variations pathologiques : les maladies provoquant une ostéolyse se traduisent généralement par une hyperphosphatasémie. Au cours du rachitisme, l'augmentation de phosphatasémie est constante et précoce.

La phosphatasémie reflète assez fidèlement le pouvoir phosphoestérasique relatif des foyers normaux ou pathologiques de production de l'enzyme.

Il y a cependant des causes d'erreur, l'enzyme a des origines diverses, des maladies du rein, du foie, des organes hématopoïétiques provoquent une augmentation du taux sérique de la phosphatase au même titre que les maladies osseuses.

Chez les volailles où l'élevage se pratique toujours sur un assez grand nombre d'individus de même âge et placés dans de mêmes conditions, on éliminera au maximum ces causes d'erreur. En effet on peut pratiquer le dosage de la phosphatasémie sur plusieurs sujets, le résultat moyen révélera plus fidèlement la menace du rachitisme.

Nous signalerons certains travaux antérieurs utilisant la recherche de la calcémie, de la phosphatasémie et de la phosphorémie comme signe d'hypovitaminose :

H. STANDSTEDT et K. SJOBERG ayant comme sujet d'expérience des porcs carencés en vitamine D observent une augmentation très importante de la phosphatasémie, une diminution marquée de la phosphorémie et une moins importante de la calcémie qui reste presque normale. Ces résultats sont surtout nets chez les jeunes porcs carencés. En administrant de la vitamine D, les différences s'effacent et l'analyse du sérum ne donne aucun indice.

KLASMER (1944) a fait une observation mettant en évidence la relation vitamine D - phosphatase : la phosphatasémie croît en hiver, diminue en été en passant par un minimum en automne. Elle suit donc l'irradiation de l'individu par les ultraviolets, source de vitamine D.

MAYEUX (1953) montre que chez le chien carencé, un taux de phosphatase sérique supérieur à 6 Unités Bodansky et l'abaissement de ce taux avec l'administration de vitamine D constitue un test quasi-spécifique de préavitaminose D

D'après cet auteur si la phosphatasémie du jeune chien dépasse 5 unités Bodansky, on a un signe certain de préavitaminose.

CONCLUSION

A la suite de cet exposé nous croyons possible d'envisager comme test de déséquilibre phospho-calcique et d'avitaminose D, l'étude de la calcémie, de la phosphorémie et de la phosphatasémie chez les volailles. Nous allons exposer une méthode de dosage capable de nous donner des résultats rapides et précis.

CHAPITRE III

METHODES DE DOSAGE

Chez les volailles et en particulier chez le jeune poussin, les quantités de sang que nous pouvons prélever sont faibles. de l'ordre de quelques centimètres cubes. Le choix des méthodes de dosage a été guidé par ce fait.

Dosage du phosphore minéral et des phosphatases du sang

par la méthode de A. BODANSKY modifiée par Paul MEUNIER et Yves RAOUL.

SON PRINCIPE

Il consiste en un dosage parallèle du phosphore minéral du plasma avant et après addition d'un substrat renfermant un large excès de glycérophosphate de sodium. La différence de phosphore minéral constatée entre les deux dosages mesure l'hydrolyse effectuée par les phosphatases du sang.

La mesure de l'activité phosphatasique s'opérera suivant les règles suivantes d'après la technique de Paul MEUNIER.

1° on opère sur le plasma afin d'éviter les phénomènes de phosphominéralisation autonome du sang provenant de l'hydrolyse des esters phosphoriques des globules ;

2° on se contente d'une heure dans une étuve à thermostat de manière à éviter une disproportion trop grande et préjudiciable au dosage entre les quantités de phosphore minéral préexistant et néoformé ;

3° l'unité adoptée est l'Unité BODANSKY qui correspond au nombre de milligrammes de phosphore libérés par 100 cc. de plasma agissant pendant une heure à 38° sur un substrat renfermant un large excès de B glycérophosphate de sodium à pH 8,6.

Méthode de submicrodosage du phosphore minéral :

elle consiste à mesurer l'intensité de la coloration bleue du complexe phosphomolybdique réduit. On emploie les réducteurs du type photographique qui permettent la préparation de réactifs à conservation longue. La lecture se fera à l'aide d'un électrophotomètre.

Submicrodosage des phosphatases du plasma.

Les réactifs sont

1° le substrat de BODANSKY
glycérophosphate de sodium 2,5 g.
diéthylbarbiturate de sodium 2,12 g.
eau bidistillée q. s. p. 500 cc.

2° une solution de Na Cl à 1,8 %

3° l'acide trichloracétique à 25 %

4° les réactifs A et B.

A { molybdate d'ammonium 2,5 g.
acide sulfurique (5 N) 100 cc.

B { sulfate de monoéthylparamidophénol 0,5 g.
sulfate acide de sodium à 15 %, 195 cc.
bisulfite de soude à 20 %, 5 cc.

SON MODE OPÉRATOIRE :

dans une fiole jaugée à 5 cc., on mélange :

substrat réchauffé 1 cc.

Na Cl à 1,8 %, 0,1 cc.

eau bidistillée 0,1 cc.

C $\text{Cl}^3 \cdot \text{COOH}$ à 25 % 0,2 cc.
on appellera cette fiole : la fiole T.

dans 2 tubes à centrifugation conique, on verse :

Tube 1

Na Cl à 1,8 % 0,1 cc.
Plasma 0,1 cc.

Tube 2

Substrat réchauffé à 38° 1 cc.
Na Cl à 1,8 % 0,1 cc.
Plasma 0,1 cc.

le tube 2 sera laissé 1 heure à l'étuve à 38°, on arrêtera l'action des phosphatases en le mettant dans une eau glacée.

On ajoute au tube 1 : 1 cc. de substrat.
aux tubes 1 et 2 : 0,2 cc. d'acide trichloracétique.

On centrifuge. Puis on ajoute aux deux tubes et à la fiole T le mélange suivant :

Solution A 4,5 cc.
Solution B 4,5 cc.

eau bidistillée q. s. p. 5 cc.

On fera alors pour le contenu des trois récipients la lecture à l'électrophotomètre. On emploiera une cuve de 10 mm., le diaphragme sera réglé à 9, la longueur d'onde étant réglée au rouge.

LE CALCUL

soient n , N , n' les chiffres lus sur le tambour de l'électrophotomètre pour les fioles T, I et II.

Le phosphore minéral contenu dans 1 cm^3 de plasma est égal à

$$(N - n) m$$

Le phosphore minéral libéré par les phosphatases en unités BODANSKY est égal à :

$$\frac{m}{(n' - n) \cdot 10}$$

n est l'absorption due à la cuve remplie avant l'apparition de la coloration bleue ;

m est la variation de concentration correspondant à 1 division du tambour. Elle s'exprime en mg. ou en $1/10^6$ mg./cc. Le calcul de m s'effectue une fois pour toutes pour une cuve et un écran donné avec les réactifs préparés, c'est la moyenne de 4 ou 5 déterminations faites sur des concentrations différentes et connues.

On emploie pour ce calcul une solution étalon :

on fait dissoudre 0,3509 grammes de phosphate monopotassique dans l'eau bidistillée, on verse dans un flacon gradué à un litre, après avoir ajouté 10 cc. de SO_4H_2 10N on complète à 1 litre avec de l'eau bidistillée.

Cette solution a une conservation indéfinie ; 0,1 cc. de cette solution contient 0,008 mg/litre de phosphore. A partir d'elle on prépare d'autres solutions connues.

Dosage de la calcémie par photométrie de la réaction complexone-murexide

SES PRINCIPES

Deux pouvaient être retenus *a priori*, l'emploi de la murexide seule, l'emploi du sel sodique de l'acide éthylène diamine tétracétique ou Complexone III de SCHWARZENBACH (1948) associé à la murexide.

La murexide

Sel d'ammonium de l'acide isopurpurique ; son emploi

comme indicateur des ions Ca^{++} est connu depuis BEILSTEIN en 1858. On met à profit dans ce premier cas le virage de la murexide du violet à l'orangé en présence de Ca^{++} . RAAFLAUB en 1951 en a précisé les conditions d'emploi en biologie, il a insisté sur la nécessité d'un pH et d'une forme ionique déterminés. Il ne semble pas être parvenu, même en faisant usage d'une colorimètre photoélectrique à rendre la méthode utilisable au dosage de la calcémie. Aux difficultés de la colorimétrie en milieu de pH et de concentration saline bien définis s'ajoutent celle de la présence constante de magnésium qui interfère. Dans le cas le plus simple de l'analyse hydrologique, OSTERTAG et RINK en 1950 ont montré que les ions susceptibles d'interférer peuvent ne gêner en rien le dosage pourvu qu'ils soient en concentration suffisante, ceci conduit de façon paradoxale à ajouter du Mg pour atteindre la concentration indifférente. Dans ces conditions le seul inconvénient est une diminution importante de la sensibilité, inconvénient mineur dans le cas d'une analyse d'eau, mais rédhibitoire quand on analyse les milieux biologiques ou les teneurs en Ca et les volumes des prises d'essai sont réduits.

Usage du Complexone III

Il repose sur un principe tout différent. Le cation Ca^{++} est amené à former un anion complexe « chélaté » dans lequel il est complètement dissimulé à ses réactifs et en particulier à la murexide.

La condition pour que se forme le complexe chélaté avec le Complexone III est un pH très alcalin supérieur à 12. La marche à suivre est des plus simples :

on ajoute la murexide dans la solution calcique tamponnée à un pH supérieur ou égal à 12 par de la soude. Le milieu prend une teinte orangée caractéristique du Ca^{++} , on verse alors à la burette une solution titrée de complexone ; dès que la totalité du Ca^{++} est complexée le milieu reprend sa coloration violette propre. C'est le virage de l'orangé au violet qui sert ici d'indicateur en fin de réaction.

L'essentiel de la méthode consiste :

1° d'une part dans l'usage systématique d'un Colorimètre photoélectrique pour suivre le virage de l'orangé au violet qui sert d'indicateur en fin de réaction. Il permet de déterminer graphiquement le point de virage de la murexide.

2° d'autre part, grâce à l'extrême rapidité des opérations on peut comparer systématiquement lors de chaque série de dosages la réaction obtenue avec celle d'une solution titrée étalon de calcium de titre voisin.

L'influence du magnésium a été étudiée par M.-B. DREVON et M^{lle} D. MANDON. Ils ont montré l'existence d'une légère erreur par excès qui croît avec la teneur du sel en Mg^{++} . Fort heureusement cet élément présente une fixité suffisante pour que soit justifiée une correction expérimentale moyenne. On multiplie le chiffre du calcium « brut » par le coefficient 0,98 pour obtenir le résultat exact. Ce coefficient a été choisi après l'étude statistique des erreurs sur un grand nombre de dosages.

M. B. DREVON et M^{lle} D. MANDON ont mis au point une microméthode volumétrique qui nous fournit en une dizaine de minutes un résultat très exact en n'utilisant qu'un faible volume de sérum, ce qui est pour nous d'un intérêt majeur.

TECHNIQUE DE M. B. DREVON ET M^{lle} D. MANDON

C'est un dosage direct sans minéralisation ni calcification préalable, sans éliminer les ions gênants.

La prise d'essai est réduite : 0,5 à 1 cc. Le nombre d'analyses n'est pas limité, on recherche un rendement de 20 à 30 dosages par demi-journée de travail.

Matériel nécessaire

1 microburette de 1 ou 2 cc. graduée en centièmes
des tubes à hémolyses de 5 à 7 cc. très propres pouvant se placer dans un colorimètre photoélectrique ;
un colorimètre photoélectrique muni d'un écran vert filtrant les radiations de 520 $m\mu$ environ.

Les réactifs

1 solution mère de calcium à 1 g. pour 1.000,

1 solution étalon de Ca^{++} à 0,01 mg. pour 100 cc. préparée extemporanément en diluant avec soin 5 cc. de solution mère dans 50 cc. d'eau distillée.

1 solution titrée au sel disodique de l'acide éthylène diamine tétracétique (E. D. T. A.).

On la prépare par pesée directe à la balance, on a une solution aqueuse dont 1 cc. correspond à 0,000040 grammes de Ca.

— Indicateur murexide.

C'est une solution aqueuse saturée faite extemporanément par 5 ou 10 cc. à la fois et filtrée sur coton de verre serré. Son titre exact est sans importance. Cette solution sera rejetée après emploi.

— Hydroxyde de sodium 8 N (lessive de soude « à l'alcool »).

— Eau bidistillée.

fraîche ou conservée en flacon de Pyrex (rodage siliconé).

Mode opératoire

Dans un tube à hémolyse, on mesure exactement avec une pipette spéciale vérifiée par pesée de mercure 0,5 ou 1 cc. de sérum. On ajoute 2 cc. d'eau bidistillée, 1 ou 2 gouttes de murexide et 2 gouttes de lessive de soude et l'on prépare aussitôt un deuxième tube qui permettra :

a) de juger grossièrement des modifications de couleur du contenu du tube n° 1 ;

b) de faire ultérieurement un second dosage contrôlant le premier.

On introduit la solution titrée d'E. D. T. A. par fraction de 0,1 à 0,2 cc. au début, soit en comptant le nombre de gouttes, soit en mesurant les volumes à la lunette.

Lorsque le virage paraît proche, on suit au photocolorimètre les variations de la densité optique après chaque affusion d'E. D. T. A. Après avoir mélangé les liquides on peut pour plus de rapidité, porter directement sur un papier millimètre la densité optique (divisions du tambour gradué de l'appareil) en fonction du volume ou du nombre de gouttes. La construction graphique donne deux demi-droites : l'une descendante qui correspond au virage progressif de l'indicateur, l'autre sensiblement horizontale qui correspond au palier que l'on obtient en continuant les affusions d'E. D. T. A. et les lectures photométriques après que le virage ait été obtenu. L'abscisse du point d'intersection des deux demi-droites permet de connaître à 0,01 cc. près le volume exact de solution utilisée.

Ces opérations ne demandent que quelques minutes, on fait une seconde mesure sur le contenu du tube n° 2, cette seconde détermination est encore plus rapide : 3 à 4 minutes environ.

Ces opérations sont alors recommencées en partant de 0,5 ou 1 cc. de la solution étalon de Ca^{++} additionnée exactement des mêmes quantités d'eau, de soude et d'indicateur que le sérum précédemment analysé.

Soient ne et nt les abscisses du point de virage de l'essai (sérum) et du témoin, la teneur en Ca^{++} du sérum est donnée avec une approximation de 1 pour 100 en plus ou en moins par l'expression :

$$\text{Ca}^{++} = \frac{(100 \text{ ne}) 0,98}{\text{nt}}$$

CHAPITRE IV

EXPERIENCES PERSONNELLES

Nous avons effectué trois groupes de travaux différents ; en premier lieu sur des volailles adultes, poules et coqs de races différentes (Sussex, Leghorn) nous avons dosé la calcémie, la phosphorémie et la phosphatasémie en vue de posséder des chiffres nous donnant une indication de base et pouvant nous servir ultérieurement à faire des comparaisons. Puis nous avons effectué ces dosages sur 100 poussins divisés en deux lots égaux, les uns placés dans des conditions optima d'alimentation, les autres soumis à un régime carencé en vitamine D et pauvre en calcium et en phosphore ; nous avons fait ces dosages depuis la première semaine jusqu'à la dixième. Enfin, sur des poulettes et des poules pondeuses, nous avons effectué les mêmes recherches.

I - Résultats obtenus sur des poules et des coqs adultes

Ces volailles étaient cliniquement saines et dans un état d'embonpoint satisfaisant. Nous avons relevé les résultats suivants :

1° le 19-12-1953 :

N°	Phosphorémie (mg./l. sérum)	Phosphatasémie (Unités Bodansky)	Calcémie (mg./l)
1	49,5	17,7	142
2	40,5	5,9	201
3	88,5	54,6	225
4	56,5	4,05	260

Le 20-12-1953, nous nous bornons à la recherche de la phosphorémie et de la phosphatasémie :

N° 1 à 4	P mg./l. sérum	Phosphatases V. B.	Ca mg./l. sérum
1	46,5	5,25	
2	51	5,5	
3	55,5	5,85	
4	45	4,95	

Nous remarquons de suite les faits suivants :

1°) le rapport phospho-calcique $\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$ est élevé et compris

entre 2 et 4 chez les volailles adultes que nous avons étudiées.

2°) la phosphatasémie paraît voisine de 5 unités Bondan-sky mais deux résultats : 17,7 et 54,6 U. B. relevés le 19-12-1953 nous interdisent de nous faire une opinion à ce sujet.

II - Résultats obtenus sur les deux lots de poulets d'ex-périence

Le 15-1-1954 nous recevons 100 poussins d'un jour de race Leghorn. 50 d'entre eux sont placés dans une batterie d'élevage et sont alimentés à volonté. Ils reçoivent un aliment complet de « premier âge ». Ils sont soumis à l'irradiation de lampes à rayons infra-rouges et placés dans un local chauffé et éclairé. Nous dosons le calcium et le phosphore minéral contenus dans l'aliment, nous trouvons :

Teneur en P minéral	0,89 %
Teneur en Ca minéral	1,8 %
Rapport phosphocalcique $\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$ très voisin de 2	

Les poussins trouveront en outre dans cet aliment de 6 à 900 unités AOAC de vitamine D₃ dans leur ration journalière.

Ce premier lot est donc dans des conditions idéales de croissance. Le second lot, 50 poussins également, est placé dans une batterie d'élevage et reçoit un aliment spécialement préparé. Cet aliment renferme de la farine de gruau, de la caséine, de la levure de bière, du carbonate de calcium et du chlorure de calcium.

Nous dosons les quantités de calcium et de phosphore qui y sont contenues, nous trouvons :

teneur en P minéral = 0,65 %

teneur en Ca minéral = 0,73 %

rapport phosphocalcique peu différent de 1.

Cet aliment est donc rachitigène. De plus il ne contient pas de vitamines A et D. Les poussins sont enfermés dans une chambre noire et ne sont jamais exposés à la lumière solaire.

Pour éviter une carence en vitamine A nous distribuons chaque semaine aux poussins du second lot une quantité suffisante de palmitate d'axérophthol.

Les Expériences

Tout d'abord il nous faut trois poussins pour fournir la quantité de sang nécessaire à un seul dosage, puis deux suffisent après 15 jours d'élevage, enfin au bout de trois semaines, nous pouvons faire un dosage individuel.

Le sang est prélevé à la veine alaire, celle-ci étant sectionnée à l'aide d'un bistouri très effilé. Les poussins supportent très bien l'opération.

Nous commençons nos expériences le 27-1-1954 : nous obtenons les résultats suivants :

	Poulets non carencés	Poulets carencés
Calcémie mg./l.	96	98
Phosphorémie mg./l. ...	63	69
Phosphatasémie U B...	16,3	23

Nous remarquons que déjà apparaît une différence, concernant la phosphatasémie, entre les deux lots :

Le 5-2-1954 :

	Poulets non carencés	Poulets carencés
Calcémie mg./l.	95	96
Phosphorémie mg./l. . .	64	67
Phosphatasémie U B . . .	9,4	13,5

Cette différence semble se réduire, ce qui est surprenant, toutes les précautions étant prises en vue d'éviter une erreur d'expérience.

Le 12-2-1954 :

	Poulets non carencés	Poulets carencés
Calcémie mg./l.	92	93
Phosphorémie mg./l. . .	59	70
Phosphatasémie U B . . .	6,6	26

A nouveau il semble qu'il y ait une forte différence entre la phosphatasémie des poulets des deux lots.

Si nous examinons les résultats obtenus depuis trois semaines, nous sommes frappés par les variations de la phosphatasémie. Celle-ci passe en effet de 23 UB à 13,5 pour remonter ensuite à 26 unités Bodansky chez les poussins carencés. Nous plaçons les jeunes poulets qui nous avaient procuré les derniers résultats dans une cage et nous les abandonnons 24 heures sans nourriture. Nous recommençons alors les dosages. Ces poulets nous fournissent à nouveau la quantité de sang nécessaire au dosage.

Le 13-2-1954. — Résultats obtenus sur les poulets à jeun.

	Poulets non carencés	Poulets carencés
Calcémie mg./l.	94	93
Phosphorémie mg./l. . .	60	71
Phosphatasémie U. B. . .	7,2	28,3

Les résultats obtenus sont très voisins de ceux donnés par les expériences faites sur les poulets pendant la digestion. Au cours de celle-ci il n'y a pas de variations notables de la phosphatasémie.

Le 19-2-1954

Les quantités de sang que nous pouvons prélever deve-

nant importantes, nous étudions les quantités de Ca, P, phosphatases contenues dans le plasma sanguin tout en continuant les dosages sériques.

Une partie du sang est citratée, puis centrifugée à deux reprises, on obtient le plasma.

Résultats obtenus (sérum et plasma)

	2 Poulets non carencés		2 Poulets carencés	
	Sérum	Plasma	Sérum	Plasma
Calcémie mg./l.	99	86	105	83
Phosphorémie mg./l.	56	42	60	53
Phosphatases V B	19	4,2	20,6	14,1

Le 26-2-1954. — Résultats obtenus (P et phosphatases du plasma Ca sérique).

	2 Poulets non carencés		2 Poulets carencés	
Calcémie mg./l. (sérum)	100	96	101	102
Phosphorémie mg./l. (plasma)	52	53	59	50
Phosphatases U B..... (plasma)	5,6	7	9,4	10,8

Le 3-3-1954. — Résultats obtenus (P et phosphatases du plasma à Ca sérique).

	3 Poulets non carencés			3 Poulets carencés		
Calcémie mg./l. (sérum)	105	102	105	105	111	109
Phosphorémie mg./l. . (plasma)	50	60	56	72	62	60
Phosphatases U B	9,5	11,2	8,7	6,9	9,8	6,4

Le 10-3-1954. — Résultats obtenus (P et phosphatases du plasma Ca sérique).

	2 Poulets non carencés		2 Poulets carencés	
Calcémie mg./l. (sérum)	117	115	124	109

Phosphorémie mg./l.	42	54	48	46
(plasma)				
Phosphatases U B	9,4	11,2	7,5	6
(plasma)				

Si nous rassemblons ces différents résultats nous constatons :

1°) au cours du deuxième mois apparaît une augmentation de la phosphatasémie chez les poulets carencés 26 unités Bodansky au lieu de 6,6 chez les poulets non carencés le 12-2, puis 28 U B pour 7,2 le 13-2 chez les mêmes poulets à jeun, 14 U B pour 4,2 le 19-2 et 10,8 U B pour 7 le 26-2. Cette différence entre les deux lots disparaît brusquement à la fin du deuxième mois.

2°) au troisième mois :

- même calcémie dans les deux lots : 100 à 110 mg./l.
- même phosphorémie : 55 à 60 mg./l.
- un rapport phosphocalcique voisin de 1,9.
- la phosphatasémie semble se stabiliser à 7-10 U. B.

3° les résultats obtenus sont identiques en étudiant la calcémie, la phosphorémie, la phosphatasémie dans le plasma et dans le sérum.

III - Résultats obtenus sur des poules pondeuses

Le 12-2-1954. — Résultats (Ca, P, phosphatases sériques).

	Poule Sussex 1	Poule Sussex 2
Calcémie (mg./l.)	198	154
Phosphorémie (mg./l.)	71	53
Phosphatases U B.....	75	34

Toutes les poules sont en période de ponte au moment des prélèvements.

Le 26-2-1954. — Résultats (P et phosphatases du plasma Ca du sérum).

	Poule Sussex 3	Poule Sussex 4
Calcémie mg./l.	216	274
Phosphorémie mg./l.	38	46
Phosphatases U B.....	27,7	57

Le 3-3-1954. — Résultats (P et phosphatases du plasma, Ca du sérum).

Poules Sussex	Calcémie mg./l.	Phosphorémie mg./l.	Phosphatasémie U B
1	220	23	15
2	230	66	46
3	182	42	37
4	155	39	12
5	231	46	28
6	248	38	38
7	203	31	42

Le 17-3-1954

Poules Sussex	Calcémie	Phosphorémie	Phosphatasémie
1	218	47	supérieure à 76
2	204	34	» »

Au mois de mai, les poulettes Leghorn que nous avons élevées en batterie commencent à pondre. Nous prélevons du sang aux pondeuses et nous effectuons les dosages. Voici les résultats que nous obtenons :

Le 18-5-1954

Poulett. pondeuses	Calcémie mg./l. de sérum	Phosphore mg./l. de plasma	Phosphatases du plasma en UB
1	205	28	4,5
2	201	49	5,3
3	197	27	5
4	159	24	4,2
5	230	35	3,1

Le 3-6-1954

Poulett. pondeuses	Calcémie mg./l. de sérum	Phosphore mg./l. de plasma	Phosphatases du plasma en UB
1	147	48	61
2	236	49	11
3	206	27	10
4	123	34	4,9

Le même jour, nous effectuons les dosages sur deux poulets Leghorn du même âge.

Poulets	Calcémie mg./l. de sérum	Phosphore mg./l. de plasma	Phosphatasés du plasma en UB
1	123	34	4,9
2	188	36	14,7

Ces deux derniers résultats ne nous montrent qu'une légère différence concernant la calcémie. Celle-ci est moins élevée chez les volailles mâles et les poules en dehors de leur période de ponte. Elle est au contraire très importante chez les poules pondeuses comme le montre cette dernière série d'expériences.

Le rapport phosphocalcique de celles-ci est compris entre 2 et 4,5.

Quant à la phosphatasémie, elle est excessivement variable. Nous rencontrons au long des expériences tous les chiffres entre 3 et 50 Unités Bodansky avec cependant une majorité de chiffres voisins de 30 à 4 U B ce qui représente une phosphatasémie très élevée.

CONCLUSIONS

Malgré toutes les précautions dont nous nous sommes entourés, l'utilisation de micro-méthodes précises de dosages, l'élevage de deux groupes de poulets surveillés étroitement, nous n'avons pu obtenir un résultat positif.

Il nous apparaît impossible de déceler une avitaminose D d'après l'examen chimique du sang portant sur la calcémie, la phosphorémie et la phosphatasémie, même après plusieurs mois de régime carencé en vitamine D.

Au cours du deuxième mois de vie des poulets carencés est apparu une augmentation de leur phosphatasémie mais après une période critique de trois semaines leur phosphatasémie diminue et est alors identique à celle des poulets non carencés.

La phosphatasémie est très variable et très élevée chez les volailles (3 à 50 Unités Bodansky).

Elle est voisine de 10 Unités Bodansky au troisième mois de la vie du poulet.

La calcémie des poules pondeuses atteint parfois 260 à 280 mg. par litre, tandis que la phosphorémie voisine de 40 mg. par litre reste identique à celle des autres volailles.

Les résultats concernant la calcémie et la phosphorémie sont semblables à ceux publiés par de nombreux auteurs.

C'est l'extrême diversité des résultats obtenus en dosant la phosphatasémie des poulets qui nous interdit de proposer un test de pré-avitaminose D.

Le dysfonctionnement d'organes tels que le foie, le rein, fait varier la phosphatasémie, il existe peut être chez les volailles un organe doué d'un pouvoir phosphoestérasique élevé qui nous est inconnu actuellement et dont l'activité vient troubler nos observations.

Vu : LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
Professeur BRION.

Vu : LE DIRECTEUR
DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
Professeur L. JUNG.

Vu :
LE DOYEN
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,
A.-H. HERMANN.

Vu :
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE
Professeur MOURIQUAND,
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,

Vu et permis d'imprimer : Lyon, le 2 Mars 1955.
LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

- BRION (A.). — La Vitamine D₃ *Encyclopédie Vétérinaire Périodique*, 1949, 440.
- D'ALLEMAGNE (M.-J.). — Données récentes sur la nature et le métabolisme de l'os, *Actualités Biochimiques*, 1945, n° 2, Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris.
- DREVON (M.-B.) et M^{lle} MANDON. — Dosage rapide de la calcémie, *Lyon Pharmaceutique*, 1953, n° 8.
- FABRE (A.). — Les phosphatases, intérêt de leur dosage, *Presse Médicale*, 1950, n° 41, 743.
- LÉVY (M.), SAPIR (M.) et collaborateurs. — Des critères de l'action de la Vitamine D. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1947, **XXIX**, 1007.
- LÉVY (M.), SAPIR (M.) et MIGNON (S.). — Doses massives de vitamine D chez l'adulte humain : reflet humoral, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1949, **XXXI**, 300.
- LIÉGEOIS (F.). — Pathologie médicale des animaux domestiques 1949, 3^e édition, Jules Duculot, éditeur, Gembloux (Belgique).
- LÔMER (P.-E.). — Contribution à l'étude de l'hypocalcémie dans la fièvre vitulaire, *Thèse vétérinaire*, Paris, 1935.
- MAYEUX (G.). — Sur l'avitaminose D du chien. Diagnostic chimique. Contrôle du traitement. *Thèse vétérinaire*, Lyon, 1953.
- MEUNIER (P.) et RAOUL (Y.). — Le diagnostic chimique des avitaminoses, Paris, 1942, Masson et C^{ie}, éditeurs.
- MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — Les Vitamines antirachiques, *Traité de physiologie normale et pathologique* publié sous la direction de G.-H. Roger et L. Binet, **XII**, 363 et suivantes.
- OSTERTAG et RINK. — *C. R. Ac. Sc.*, 1950, 1304 et 1305.
- RAAFLAUB (S.). — *Hoppe-Scyler's Physiol. Chem. Dtsch*, 1951, **288**, 228-236.
- RANDOIN (L.) et FOURNIER (P.). — Le dosage des vitamines D antirachitiques par les méthodes biologiques, *Ann. Nut. et Alim*, 1950, **IV**, n° 2.
- ROCHE (J.) et BOUGHILLOUX (S.). — Spécialité de la phosphatase alcaline, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **XXII**, 739.
- ROCHE (J.) et COURTOIS (J.). — Les phosphatases, *Exp. An. de Biol. Méd. publiés par M. Polonowski*, 1944, **IV**, 219.

- ROCHE (J.). — La phosphatase des os, *Exp. An. de Biol. Méd. publiés par M. Polonowski*, 1942, **III**, 251.
- SCHWARZENBACH et ACKERMANN. — *Helv. Chim. Acta*, 1947, **30**, 1798 ; *Helv. Chim. Acta*, 1948 ; **31**, 1029.
- STANDSTECT (H.) et SJOBERG (K.). — *Veterinärtidskrift Uppsala*, 1943, 641. Abst. in *Encyclopédie Vétérinaire Périodique*, 1947, n^{os} 3-4.

